

Differenzierung von Paraproteinen

unter Verwendung verschiedener neuerer
Elektrophoresetechniken und der Aufspaltung
von γ -Globulin durch Cysteamin

von

GÜNTER EISEN

aus Bamberg

1968

1969 № 325

Aus der Abteilung für klinische Immunologie
des Universitätskrankenhauses
Erlangen-Nürnberg
Vorstand : Professor Dr. F. Scheiffarth

DIFFERENZIERUNG VON PARAPROTEINEN

unter Verwendung verschiedener neuerer Elektrophoresetechniken und der Aufspaltung von γ -Globulin durch Cysteamin.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

der

FRIEDRICH-ALEXANDER-UNIVERSITÄT

zu

ERLANGEN-NÜRNBERG

vorgelegt von

Günter Eisen

aus Bamberg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Professor Dr. E. Wetterer

Referent: Professor Dr. F. Scheiffarth

Tag der mündlichen Prüfung: 31. Juli 1968

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1 - 2
Untersuchungsgut und Versuchsanordnung	3 - 4
Methodik	4 - 8
Ergebnisse	9 - 12
Diskussion	12 - 15
Zusammenfassung	16
Literaturverzeichnis	17 - 21



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546221_0053

Einleitung

Unter den Differenzierungsmöglichkeiten von Paraproteinen hat vor allem die Elektrophorese sowohl im klinischen als auch im Forschungslaboratorium einen festen Platz eingenommen. Sieht man von der klassischen freien Elektrophorese ab (1,31,32,33), so hat die Entwicklung verschiedener Medien, Papier (12), Agargel (10,11), Celluloseacetat (17), Stärkegel (29) sowie Polyacrylamid-Gel (22) im Verlaufe der letzten zwei Jahrzehnte wesentliche Verbesserungen für die Differenzierung von Proteingemischen und insbesondere auch von Paraproteinen mit sich gebracht. Eine besondere Stellung nimmt unter den Elektrophoresetechniken inzwischen die Immunelektrophorese ein, eine Kombination von Elektrophorese im Agargel und immunologischer Technik. Die Vorteile dieser Methodik liegen vor allem darin, daß durch Elektrophorese und Diffusionseigenschaften der Proteinsysteme im Agargel, in Abhängigkeit von ihrer molekularen Beschaffenheit, bereits besondere Merkmale zutage treten, die unter Verwendung polyvalenter und monovalenter Antiseren exakt definierbar sind. Dies wird insbesondere durch die in jüngster Zeit im Handel erhältlichen Antiseren gegen " γ -chains " , d.h. gegen fermentativ abgespaltene γ -Globulin-Bruchstücke, dargelegt. Neben der elektrophoretischen Trennung haben sich noch andere Trennverfahren zur Differenzierung von Proteinen und Paraproteinen bewährt, so die verschiedenen chromatographischen, einschließlich der säulenchromatographischen Methoden, die Gelfiltration (19) sowie selbstverständlich die Ultrazentrifugen-Untersuchung mit Bestimmung der Sedimentationskonstanten.

Darüber hinaus werden biochemische Methoden zur Differenzierung und Charakterisierung von Paraproteinen, so z.B. die Bestimmung des Kohlehydrat- und Lipoidanteiles mit herangezogen. Durch derartige vergleichende und kombinierte Untersuchungen könnten Normal- und Paraproteine heute hinsichtlich ihrer physikalischen, biochemischen und auch immunologischen Eigenschaften bzw. Funktionen exakt charakterisiert werden.

In jüngster Zeit wurden Befunde in der Literatur mitgeteilt, die darauf hinweisen, daß die Vielzahl der Paraproteintypen, bzw. die Varianten dieser, wie man heute weiß, immunologisch inaktive γ -Globuline, auf Strukturänderungen bzw. Entartungsvorgänge von bestimmten Aminosäurenketten, sogenannter " chains " zurückzuführen ist (7,8,13,14,15,16,20,21,26,27,30).

In vorliegender Arbeit wurden vergleichende elektrophoretische Analysen von Paraproteinen auf Papier, im Agar-gel (Immuno-Elektrophorese) sowie in Polyacrylamidgel vorgenommen. Darüber hinaus wurden die γ_1 -Makroglobuline sowie vergleichsweise auch γ_A - und γ_G -Myelomproteine aus dem vorliegenden Untersuchungsgut mit Cysteamin behandelt und die dabei entstandenen Spaltprodukte ebenfalls mit den verschiedenen Methoden vergleichend geprüft.

Untersuchungsgut und Versuchsanordnung

1) Untersuchungsgut:

Es wurden insgesamt 29 Seren mit Paraproteinen untersucht. Gemessen an den papierelektrophoretisch definierbaren Typen fanden sich unter dem vorliegenden Untersuchungsgut 13 γ_N -, 5 γ_1 -, 3 γ_2 -, 4 β_N - und 2 β_2 -Myelomproteine sowie 2 Seren mit Makroglobulinaemie.

2) Versuchsanordnung:

Untersucht wurden 29 unbehandelte Seren (gesammelt, aufbewahrt in Kühltruhe bei -20°C); außerdem 6 von diesen Seren, welche durch Cysteaminhydrochlorid gespalten worden waren.

Im einzelnen handelte es sich um folgende Untersuchungen:

- a) Behandlung mit Cysteaminhydrochlorid von 6 Seren (2 Seren mit Makroglobulinaemie, 2 Seren mit γ_G -Myelom und 2 Seren mit γ_A -Myelom).
- b) Papierelektrophorese zur Typisierung von Paraproteinen.
- c) Immunoelktrophorese unter Verwendung eines polyvalenten Antihumanserums ⁺⁾ sowie folgender monovalenter Antiseren gegen Polypeptidketten von γ -Globulinen, also mit

Anti-Fab-Serum ⁺⁾

Anti-Fc-Serum ⁺⁾ sowie

Anti- γ -chain (BJ)-Serum ⁺⁾

⁺⁾

Hyland Laboratories, Los Angeles, Calif., U.S.A.

- d) Polyacrylamidgel-Elektrophorese mit nachfolgender
Amidoschwarzfärbung (Amidoschwarz 10 B).

Methoden

- a) Behandlung mit Cysteaminhydrochlorid (5):

Eine 1m Cysteaminhydrochlorid-Lösung in NaCl-Phosphat-
puffer pH 7,2 (9,08 g KH_2PO_4 ad 1000 ml; davon 28,5 ml
11,88 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ad 1000 ml;
davon 71,5 ml Sörensen-Puffer)

wurden jeweils 1:10 mit Serum verdünnt und das Ge-
misch 2 Std. bei Zimmertemperatur inkubiert. Anschlies-
send 2 Std. Dialyse gegen 0,02 m Monojodacetat
(Mol.Gew. 3,719).

Diese Proben wurden immunoelektrophoretisch untersucht.

- b) Papierelektrophorese:

Die Papierelektrophorese wurde nach den Angaben von
GRASSMANN und HANNIG (12,24) vorgenommen. Zur Anfär-
bung der abgetrennten Proteinfractionen wurde Amido-
schwarz 10 B verwendet.

- c) Immunoelektrophorese:

Die Immunoelektrophorese wurde im Prinzip in klassischer
Weise nach GRABAR und WILLIAMS (9,10,11) bzw. in der
Modifikation von SCHEIDEGGER (23) ausgeführt.

- 1) Prinzip:

Die Immunoelektrophorese stellt eine Kombination
der Elektrophorese im Agargel und der anschließen-
den immunologischen Differenzierung der getrennten
Komponenten mittels eines spezifischen Immunserums

dar. Die nach 24 - 48 Stunden auftretenden Präzipitationslinien werden nach ihrer Position zueinander beurteilt. Zur Darstellung der Proteinsysteme eignet sich die Färbung mit Amidoschwarz 10 B in besonderem Maße.

2) Technik:

In den vorbereiteten Agarplatten (Objektträger) werden parallel zur Trennungsrichtung Kanäle gezogen, bzw. Schlitzte ausgestanzt, die nach Abschluß der Elektrophorese (1 1/2 Stunden Trennzeit, bei 200 V Gleichstrom und Zimmertemperatur, in Michaelispuffer pH 8,6 , $u = 0,05$) der Aufnahme des Antiserums dienen. Nach Abschluß der Elektrophorese wird in die vorbereiteten Längskanäle spezifisches Antiserum eingelassen und einige Stunden der Diffusion ausgesetzt. An den Berührungszonen von Antigen und Antikörper kommt es zur Ausbildung von Präzipitationslinien. Nach Lagerung in physiologischer Kochsalzlösung erfolgt Trocknung bei 37°C und anschließender Färbung mit Amidoschwarz 10 B. Entfärbung erfolgt mit 2%iger Essigsäure unter Zusatz von Glycerin.

d) Polyacrylamidgel-Elektrophorese:

Seit der Einführung von Polyacrylamidgel (PAA-Gel) als Träger für Elektrophoresen durch RAYMOND und WEINTRAUB (22) hat sich dieses synthetische Gel als vielseitig verwendbar erwiesen (2,3,34). Die Trennung eines Eiweißgemisches in PAA-Gel erfolgt wie in

Stärkegel nicht nur nach verschiedener Ladung, sondern auch nach dem Molekulargewicht, bzw. der Molekülkonfiguration der Komponenten.

1) Apparatur:

Als Bodenplatten wurden 18 cm große Platten aus normalem Tafelglas verwendet, die mit einem 1 cm breiten Glasrand von 2 mm Höhe umklebt sind, sowie einer Deckplatte passender Größe. Als Puffertrog kann jede beliebige Ausführung geeigneter Breite Verwendung finden.

2) Beschickung des PAA-Gels:

Herstellung eines Tris-Borat-PAA-Gelpuffers:

Es werden 66 g Cyanogum 41 ⁺) und 34,3 ml einer Tris-Borat-Stammlösung zusammengegeben und mit H₂O ad 1000 ml aufgefüllt.

Tris-Borat-Stammlösung:

Mischen von 12,2 ml Trispuffer und 4,95 ml Boratpuffer; der Trispuffer setzt sich zusammen aus 51,5 ml Tris (2,54 m) und 6,0 ml Citronensäure (2,54 m).

Der Boratpuffer setzt sich zusammen aus 37,1 ml H₃BO₃ (1,094 m) und 12,4 ml NaOH (1,094 m).

Zu 300 ml dieser 6,6%igen, gepufferten Cyanogum-Lösung gibt man zwecks Vernetzung 30 ml einer 6,6%igen DMAFN- und 30 ml einer 0,66%igen AP-Lösung. Während der Zugabe sollte gerührt werden, um lokale Polymerisationen zu vermeiden. Dieses Gel wird in eine waagrecht gelagerte Bodenplatte gegossen.

Um eine Auftragestelle zu erhalten, die ein strahlen-
freies Abwandern der Proteine vom Papier in das Gel
gestattet, wurde vorher auf die Unterseite der Deck-
platte etwa 3-4 cm vom kathodischen Kammerrand ent-
fernt ein 1 mm dicker, bis zu 1,5 cm breiter Agar-
streifen (1,0%iger Reinagar Behring in Gelpuffer) ge-
legt, der quer über die gesamte Deckplattenbreite
reicht. Nun wird durch schräges Auflegen der Deck-
platte der Flüssigkeitsüberschuß luftblasenfrei ent-
fernt.

Nach etwa einer Stunde lagern - die Polymerisation
ist bereits nach 15 Min. beendet - wird die Kammer
geöffnet und der Agarstreifen aus dem Gel herausge-
nommen. Die am Streifen freigegebene Rinne soll eine
klebrige Konsistenz zeigen. Filterpapierstreifen +)
werden mit der zu untersuchenden Lösung befeuchtet
und nach Abtupfen des Proteinüberschusses in die Mitte
der Rinne gelegt.

3) Elektrophorese:

Als Elektrophoresepuffer dient Boratpuffer:

3,71 l H_3BO_3 (1,094m)

1,24 l NaOH (1,094m)

Zum Schutz vor Austrocknung wird über die Auftrags-
rinne ein etwa 3 cm breiter Celluloidstreifen gelegt
und nachdem die Platte durch Filterpapier mit den ge-

+) Schleicher u. Schüll Nr.2315 oder Whatman Nr.120

füllten Puffertrögen verbunden ist, das gesamte Gel mit einer dünnen PVC-Folie bedeckt. Nach Auflegen einer etwa 2 mm dicken Gummiplate oder der Glasdeckplatte werden 3-4 V/cm angelegt (Gleichstrom). Nach 15-16 Std. ist die Proteinfront etwa 12-13 cm gewandert, sodaß die Elektrophorese abgebrochen werden kann.

4) Färbung des FAA-Gels:

Nach Abheben der Deckfolien und der Glasdeckplatte wird die Gelschicht vorsichtig gelöst und etwa 2-3 Std. unter leichtem Hin- und Herbewegen mit Amidoschwarz angefärbt. Nach Entfärbung mit einem Methanol - Wasser - Essigsäure - Gemisch (5:5:1) über Nacht stellen sich die einzelnen Fraktionen dar. Zur Dokumentation werden die entfärbten Glasplatten in einem von unten beleuchteten Milchglastrog gelegt und im Durchlicht photographiert.

Amidoschwarz 10 B (24):

Herstellung der Färbelösung:

1 g Amidoschwarz 10 B in 1 l eines Gemisches von Acetatpuffer pH 3,7 und Glycerin 15%ig lösen.

Acetatpuffer:

500 ml Essigsäure (60 ml Eisessig ad 1000)

500 ml Acetatlösung (Na-Acetat . $3H_2O$,
13,6 g ad 1000)

Zu 850 ml Puffer werden 150 ml Glycerin gegeben.

Ges. Zahl n	rel. %	Paraproteintyp	
		Papier- elektrophorese	Immuno- elektrophorese
29	100	—	—
13	44,8	γ_N	$9\gamma_{GII}$ $2\gamma_{GIII}$ $1\gamma_{GI}$ $1\gamma_A$
5	17,2	γ_1	γ_A
3	10,3	γ_2	γ_{GIII} γ_{GIV}
4	13,8	β_N	$3\gamma_A$ $1\gamma_{GI}$
2	6,9	β_2	γ_A γ_{GI}
1	3,5	γ_2	γ_M
1	3,5	β_2	γ_M

T a b e l l e 1 :

zeigt die Gesamtzahl der untersuchten Seren mit Aufteilung in die verschiedenen papier- bzw. immuno-elektrophoretisch faßbaren Paraproteintypen.

E r g e b n i s s e

1) Papier- und Immunoelektrophorese:

In Tab.1 findet sich eine Gegenüberstellung der papier- und immunoelektrophoretisch differenzierten Seren unter besonderer Berücksichtigung der Paraproteine. Demnach fanden sich unter den hier analysierten Seren insgesamt 29 Paraproteinosen (100 %), 21 γ -Myelom-Proteine, 6 β -Myelome und 2 Makroglobuline. In einem Fall galt es, eine zusätzliche starke α_2 -Anreicherung näher zu differenzieren. Die verschiedenen Myelomtypen erwiesen sich immuno-elektrophoretisch - wie ebenfalls aus der Tabelle zu ersehen ist - weitgehend als γ_G^- (= γ_{7-S}) Anomalien. Für die weiteren Untersuchungen, hier insbesondere die Abspaltung mit Cysteamin, wurden aus dem vorliegenden Untersuchungsgut im wesentlichen nur die Makroglobulinaemien und vergleichsweise zwei Seren mit γ_G -Myelom sowie zwei Seren mit γ_A -Myelom ausgewählt.

2) Immunoelektrophoretische Ergebnisse unter Verwendung eines polyvalenten Anti-Humanserums sowie verschiedener monovalenter Antiseren gegen einzelne Immunglobuline wie auch deren Fragmente:

- a) Sämtliche Paraproteine waren sowohl mit dem Anti-Humanserum als auch mit den für sie charakteristischen monovalenten Antiseren einwandfrei darstellbar (Abb. 1 u. 2)
- b) Unter Verwendung der Anti-Fragment-Seren war folgendes aufgefallen:

Immunelektrophorese [Normalserum]

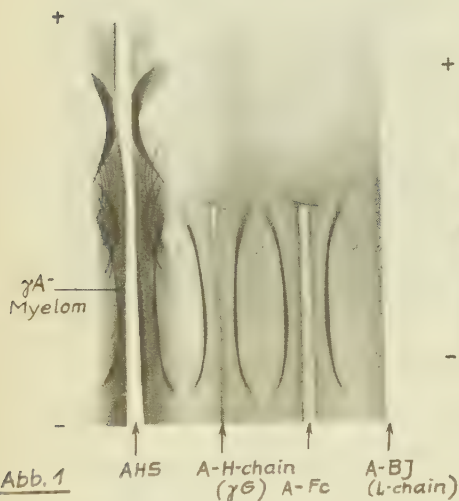
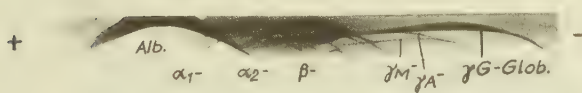


Abb. 1
nicht behandeltes Serum

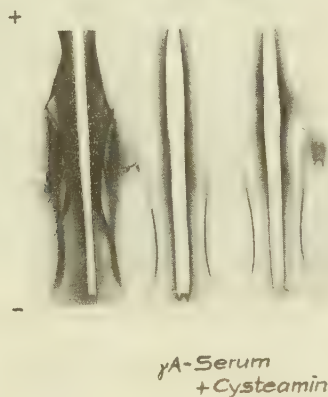


Abb. 2a

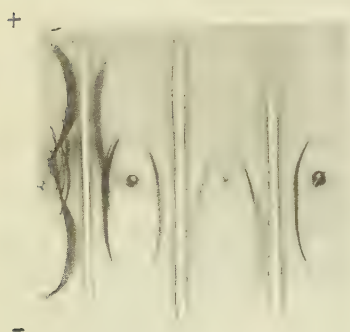


Abb. 2b

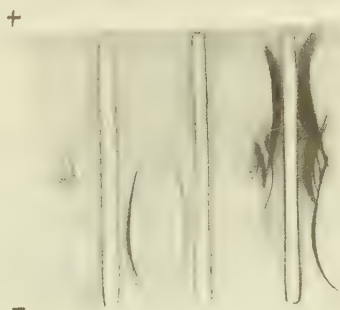


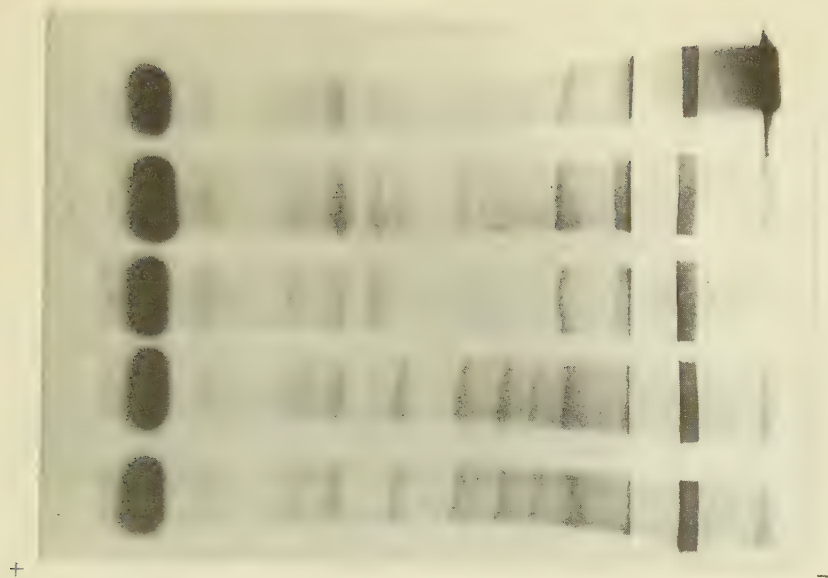
Abb. 2c

Sämtliche γ_G -Myelome waren mit dem γ -chain, dem Fab- sowie dem Fc-Fragment ohne weiteres darzustellen. Dagegen waren die γ_A -Myelom-Proteine mit keinem der monovalenten Fragment-Antiseren nachweisbar (Abb.2a). Bei Analyse der hier untersuchten Makroglobulinaemien war mit keinem der angewandten monovalenten Antiseren ein positives Resultat zu erzielen.

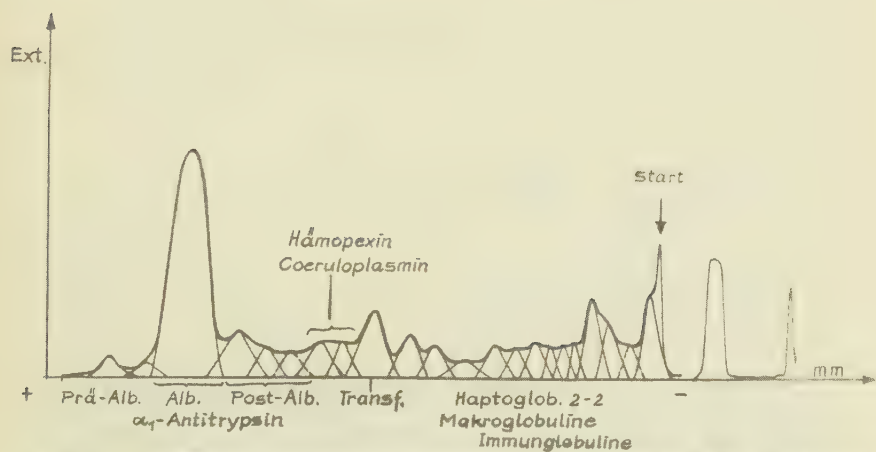
- c) Unter Verwendung des monovalenten Antiserums gegen Bence-Jones- γ -chain war in keinem der vorliegenden Seren ein positives Praezipitat nachweisbar.
- d) Bei immunoelektrophoretischer Analyse der Seren mit Makroglobulinaemie nach Zusatz von Cysteamin konnte die typische γ_M -Fraktion zwar unverändert nachgewiesen werden, sie zeigte jedoch eine Verlagerung der Präzipitationslinie in Richtung der Anode (schnellere elektrophoretische Mobilität).

Nach Behandlung der oben erwähnten 6 Seren mit Cysteamin kamen unter Verwendung eines polyvalenten Antiserums bei γ_G -Myelomproteinen folgende Besonderheiten zum Nachweis:

Dissoziation der γ_G -Globulinfraction mit Auftreten einer gedoppelten Praezipitationslinie bei Verkürzung des Gesamtpraecipitats und Verschiebung in Richtung der Anode. Unter Verwendung der oben erwähnten monovalenten Antiseren war mit dem Anti-Fc-Fragment die durch Cysteamin veränderte Praecipitationslinie isoliert nachweisbar. Das gleiche gilt für das γ -chain-Antiserum. In einem Fall eines γ_A -Globulins war nach Cysteamineinwirkung



PAA-Gel-Elektrophorese [Übersicht]

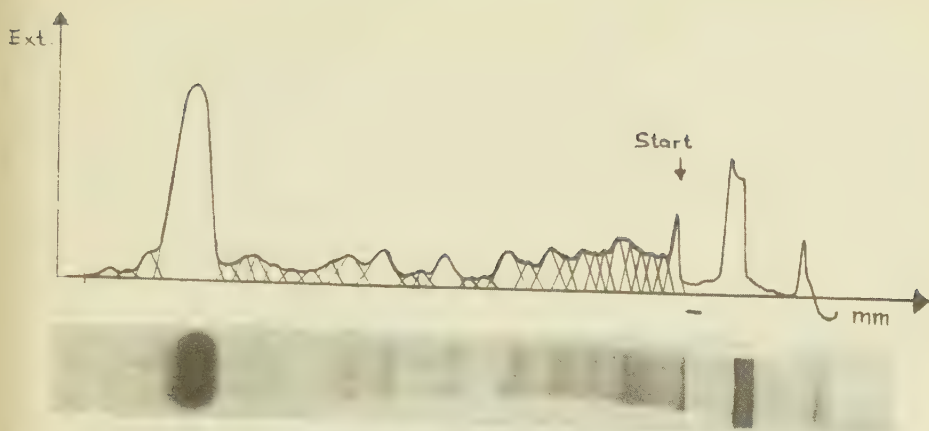


Normalserum

eine Dissoziation in eine Komponente mit geringerer Diffusionsgeschwindigkeit als dem ursprünglichen γ_A -Globulin sowie einer Komponente mit nahezu der gleichen Eigenschaft des γ_A -Proteins, das lediglich geringfügig in Richtung der Kathode verlagert war, nachzuweisen. In einem zweiten Fall eines γ_A -Myelomserums war dieses Phänomen mit Verringerung der Wanderungsgeschwindigkeit ebenfalls wahrzunehmen, der Dissoziationseffekt aber nicht so deutlich. Unter Verwendung der verschiedenen Fragment-Anti-Seren war im erstgenannten Fall die Dissoziationskomponente mit geringerer Diffusionsgeschwindigkeit als das γ_A auspräzipitiert (sowohl mit Anti-Fc-Fragment als auch mit γ -chain), im zweitgenannten Fall ließen sich mit dem Anti-Fragment-Serum nur die γ_G -Komponenten nachweisen. Mit Anti-Bence-Jones-Serum ließ sich in keinem Fall Praezipitation erzielen.

3) Ergebnisse der Trennung in PAA-Gel:

Mit der PAA-Gel-Elektrophorese konnte in Normalseren eine Vielzahl von Proteinkomponenten differenziert werden. Ohne Zuordnung kann allein auf Grund der elektrophoretischen Beweglichkeit und anhand einiger exakt definierter Proteine (Abb.3) folgende Systeme abgegrenzt werden: Bis zu drei Albuminvorfractionen (Abb.4/5), 1 Albuminfraction, 5 Komponenten mit der Wanderungsgeschwindigkeit von α -Globulinen, eine β_1 -Transferrinfraction sowie zwischen 13 - 16 Fraktionssysteme, die zwischen dem Transferrin und der Auftragestelle zur Dar-



*PAA-Gel-Elektrophoresen
verschiedener pathologischer Seren*

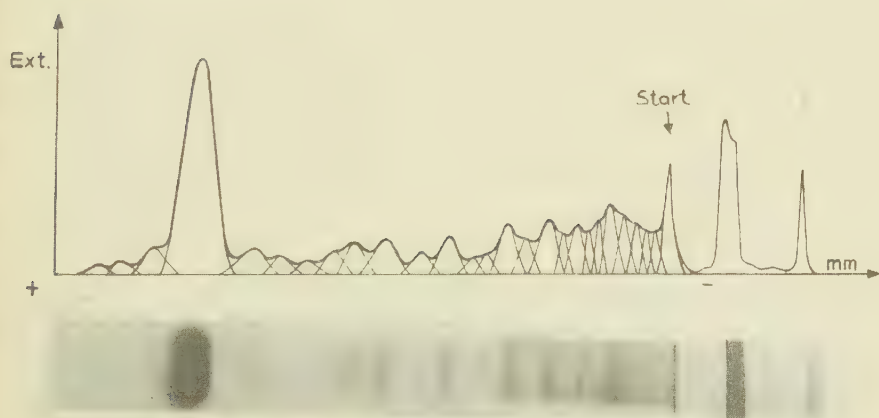
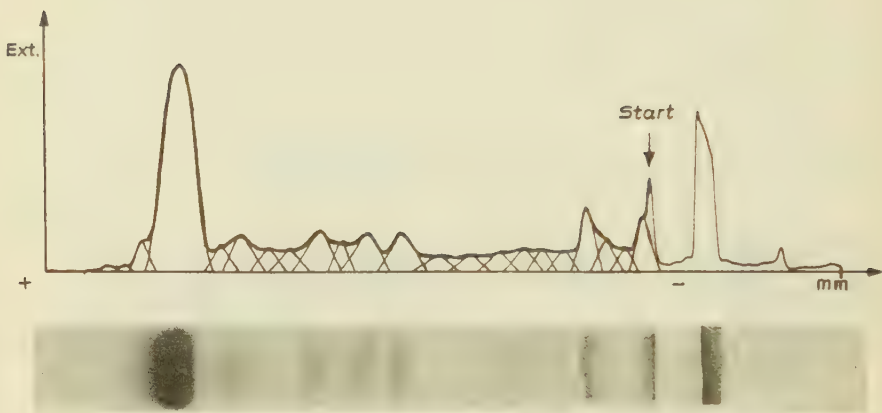


Abb. 4



*PAA-Gelelektrophoresen
verschiedener pathologischer Seren*

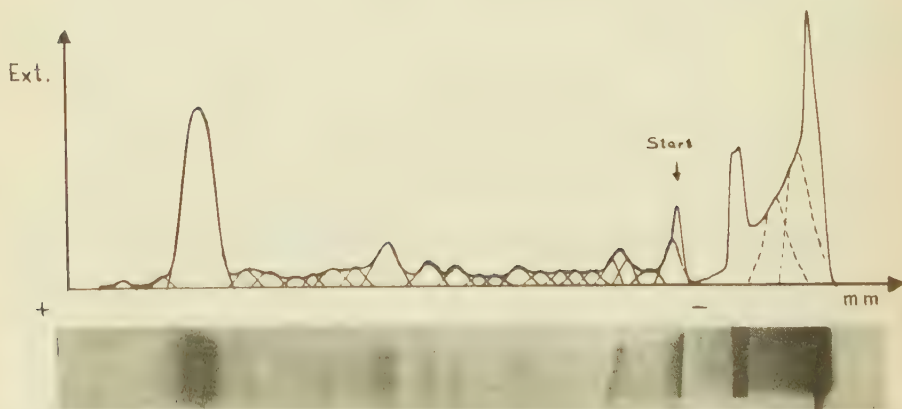


Abb. 5

stellung gelangten. Auf Grund bisheriger Erfahrungen liegen in diesem Gebiet nicht nur, wie herkömmlich, β_2 - und γ -Globuline, also β/γ -Makroglobuline und Immunglobuline, sondern auch α_1 -Makroglobuline sowie die Haptoglobinkonstellation Hp 2 - 2.

Auf Grund der Untersuchungen mit Paraproteinseren ließen sich in dem Bereich zwischen Transferrin und Auftragestelle die größten Varianten an Zahl und Relation der Proteinkomponenten aufzeigen. Es gelang jedoch bisher nicht, im Vergleich zum Papier- und Immuno-elektrophoresebefund, bestimmte Gesetzmäßigkeiten aus diesen Varianten aufzuzeigen.

D i s k u s s i o n

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse haben im wesentlichen folgende Besonderheiten erkennen lassen: Papierelektrophoresebefund, Immuno-elektrophoresebefund sowie Differenzierung im PAA-Gel sind mit Bezug auf eine Typisierung von Paraproteinen getrennt zu beurteilen, sie können einander jedenfalls nicht ohne weiteres ergänzen. Dies hängt mit der unterschiedlichen Methodik bzw. den unterschiedlichen Voraussetzungen in der Versuchsanordnung zusammen. Während zwar die Papierelektrophorese eine relativ grobe Eiweißdifferenzierung ergibt, so richtet sich heute die Paraproteindefinierung für die

Routinediagnostik noch immer nach der Phänomenologie bzw. der elektrophoretischen Position eines Paraproteins im Papier oder Cellogelelektrophoresestreifen.

Die immunoelektrophoretische Differenzierung gestattet zwar einen weitaus größeren Einblick in die Strukturbeschaffenheit von Paraproteinen, weshalb auch in den letzten 10 Jahren eine völlig neue und wohl auch sinnvolle Nomenklatur für Paraproteine geschaffen wurde, die es zugleich zuläßt, Rückschlüsse auf die zugrunde liegenden zellulären Anomalien zu ziehen, ihre Interpretation aber ist ungleich viel schwerer und deshalb mit Bezug auf eine Routinemethode vorerst noch an Speziallaboratorien bzw. an geschultes Personal gebunden. Dies umso mehr, als man sich heute bereits monovalenter Antisera bedienen kann, die ausschließlich gegen bestimmte Subfraktionen oder sogar Aminosäureketten, insbes. der Immunglobuline, gerichtet sind. Erwähnenswert sind aus den vorliegenden Untersuchungen darüber hinaus die Ergebnisse der Immunoelektrophorese unter Verwendung monovalenter Antisera gegen Immunglobulin-Fragmente.

Die Tatsache, daß mit den Antisera gegen Fab-, Fc-Fragment sowie gegen γ -chain nur γ_G -Myelomproteine, nicht aber γ_A -Myelome und auch nicht Makroglobulinämiesera positive Präzipitationsreaktionen ergaben, entspricht den bekannten Erfahrungen, daß die durch Papainisierung der γ -Globuline darstellbaren Fragmente ausschließlich an γ_G -Globulin - allerdings an physiologi-

schem γ_G -Globulin - nachweisbar werden.

γ_A - und γ_M -Globuline werden durch Papaineinwirkung nicht dissoziiert. Immerhin kann die Testung mit diesen Anti-Fragmentseren zur exakten Differenzierung von γ_G - gegenüber γ_A -Myelomproteinen stichhaltig angewandt werden. Mit Bezug auf eine weitere Abgrenzung des γ_G -Myelomproteins von Makroglobulinen kann eine zusätzliche Ausfällungsmethode mit Rivanol und anschließender immuno-elektrophoretischer Analyse angewandt werden (4,5,6,30). Die Behandlung mit Cysteamin, die auf dem von DEUTSCH und MORTEN beschriebenen Dissoziationsphänomen beruht, spaltet, wie auch andere Mercaptane, γ_M -Globuline und auch γ_G -Globuline reduktiv bzw. depolymerisiert sie; es tritt ein Zerfall in Komponenten von 6 bis 7 S ein. Dies ergab eine Reihe interessanter Abwandlungen der Präzipitationsphänomene für die entsprechenden Subfraktionen. Insbesondere fiel hier auf, daß nunmehr auch bei γ_A -Myelomproteinen mit Anti-Fc-Fragment als auch mit Anti- γ -chain positive Präzipitate nachgewiesen werden konnten. Die Phänomene sind jedoch nicht so gravierend, daß diese, an sich relativ einfache Methode der Cysteaminspaltung, für die Routinediagnostik geeignet wäre.

Die PAA-Gel-Elektrophorese bedarf vorerst noch einer Reihe von Zusatzuntersuchungen, die eine exakte Zuordnung der hier darstellbaren Proteinsysteme zu bekannten Proteinen des menschlichen Serums erlauben. Erst die kombinierte Anwendung der PAA-Gel-Elektrophorese mit

der Agartechnik, hier im Sinne der Immunoelktrophorese, die technisch bereits erprobt ist (34), wird auch mit Bezug auf die Typisierung von Paraproteinen gewisse Gesetzmäßigkeiten herausstellen lassen. Fest steht die Beobachtungstatsache, daß Paraproteine trotz ihres " schmalen " Proteingradienten, wie er z.B. in der Papier- und Cellogelelektrophorese zu Tage tritt, eine heterogene Struktur besitzen. Dies wurde von anderer Seite, sowohl mit der Stärkegel- und der kombinierten Stärkegel- und Immunoelktrophorese (26a,b,27) bereits aufgezeigt. Bemerkenswert ist allerdings, daß eine Reihe der im γ -Globulinbereich differenzierbaren Fraktionen (1,3,34) im IAA-Gel zufolge ihrer immunologischen Eigenschaften identisch sind, so daß offenbar die elektrophoretische Differenzierung lediglich durch geringfügige physikalische, nicht aber durch immunbiologische Eigenschaften zustande kommt.

Z u s a m m e n f a s s u n g

Es wurden insgesamt 29 Paraproteinosen, darunter zwei Makroglobulinaemien, mit verschiedenen Elektrophoresemethoden sowie nach Einwirkung von Cysteamin analysiert. Die Ergebnisse haben gezeigt, daß erstens die Befunde der verschiedenen Methoden ohne weiteres noch nicht verglichen werden können. Jede der Techniken hat ihre besonderen Differenzierungsmöglichkeiten von Paraproteinen; jede muß jedoch für sich betrachtet und beurteilt werden. Die Ergebnisse haben ferner gezeigt, daß zweitens die Behandlung mit Cysteamin mit der Absicht, definierte Spaltprodukte zu beurteilen, zwar gewisse Einblicke in die veränderte Struktur von Paraproteinen ermöglicht, daß vorerst aber Gesetzmäßigkeiten noch nicht abzuleiten sind. Aus diesen Gründen muß drittens festgestellt werden, daß für die klinische Routine zunächst an den herkömmlichen Protein-Trennverfahren festgehalten werden muß.

Literaturverzeichnis:

1. ANTWEILER, H.J.:

Die quantitative Elektrophorese in der Medizin.
Springer-Verlag, Berlin (1952/1957)

2. BIEL, H. und O. ZWISLER:

Über Elektrophorese in horizontalem Polyacrylamid-
Gel. 4.Mitteilung
Behringwerk-Mitt., 46, 141 (1966)

3. BIEL, H., M. HEIMBURGER, D. KRAFT, Th. KRANZ und
R. SCHMIDTBERGER:

Einige neuere analytische Methoden zur Charakteri-
sierung der Plasmaproteine.
Behringwerk-Mitt., 43, 1 (1964)

4. BURPIN, P.:

Utilisation de la cystéine dans l'étude immuno-
électrophorétique des sérums de macroglobulinémie.
Rev. franc. Etud. clin. biol., 6, 284 (1961)

5. DEUTSCH, H.F.:

Molecular transition of a γ_1 -A-type human serum
globulin.
Fed. proc., 21, 77 (1962)

6. DEUTSCH, H.F. and J.I MORTON:

Dissoziation of human serum macroglobulins.
Science, 125, 600 (1957)

7. FRANKLIN, E.C.:

- a) The immun-globulins. Their structure and function
and some techniques for their isolation.
Progr. Allergy, 8, 58 (1964)
- b) Structural units of human 7S γ -globulins.
J. clin. Invest., 39, 1933 (1960)

8. FRANKLIN, E.C. and D.R. STANWORTH:

Antigenic relationship between immune globulins and
certain paraproteins in man.
J. exp. Med., 114, 521 (1961)

9. GÖTZ, H., G. BERG und F. SCHEIFFARTH:
Methodische Grundlagen der Immunoелеktrophorese.
Z. Immunforsch., 114, 72 (1957)
10. GRABAR, P.:
Etudes sur les protéines à l'aide de méthodes
immunochimiques.
Bull. Soc. Chim. biol., 36, 65 (1954)
11. GRABAR, P. and C.A. WILLIAMS:
a) Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés
électrophorétiques et immunochimiques d'un mélange de
protéines; application au sérum sanguin.
Biochim. biophys. Acta, 10, 193 (1953)
b) Méthode immunoélectrophorétique d'analyse de
mélanges de substances antigéniques.
Biochim. biophys. Acta, 17, 67 (1955)
12. GRASSMANN, W., K. HANNIG und M. KNEDEL:
Über ein Verfahren zur elektrophoretischen Bestimmung
der Serumproteine auf Filterpapier.
Dtsch. med. Wschr., 76, 333 (1951)
13. GREY, H.M. and H.G. KUNKEL:
H-chain subgroups of myeloma proteins and normal
7S γ -globulin.
J. exp. Med., 120, 253 (1964)
14. HEREMANS, J.F.:
Les globulines sériques du système gamma. Leur
nature et leur pathologie.
Bruxelles Arscia, Masson, Paris (1960)
15. HEREMANS, J.F. and H.E. SCHULTZE:
Isolation and description of a few properties of the
beta-2-A-globulin of human serum.
Clin. Chim. Acta, 4, 96 (1959)
16. IMHOF, J.W. and R.E. BALLIEUX:
Atypical beta-2-A-myeloma. A clinical study of ten
patients with fast sedimentating (S₂₀ = 8-12 S)
serum paraproteins and an immunochemical analysis of

these pathological protein components.
Acta med. scand. 170, 449 (1961)

17. KAHN, P.:

Zur Paraproteindifferenzierung mittels Rivanol.
Klin. Wschr., 45, 2 (1967)

18. KENTEL, H.J., C.R. AMMONS jr. and W.H. BOYCE:

The synthetic gel, polyacrylamide, as a medium for
microimmunoelectrophoresis. Identification of
proteins in human serum and urine.
Analyt. Biochem (N.Y.) 6, 125 (1963)

19. MÜLLER, H.E.:

Quantitativ immunologische Bestimmungen, Gelfiltrationsanalysen und Immunelektrophoresen bei Paraproteinen.
Z. Immunitätsforsch,

20. PEETOM, F. and B. KRAMER:

Development and anomalies of 7S γ -globulin (γ ss) investigated with monkey anti-human serum.
Proc. 9th Congr. Europ. Soc. Haematol., Lisabon 1963

21. POULIK, M.D. and J. SCHUSTER:

Role of cystein in the production of Fc and F'c subcomponents of γ G-myeloma globulins.
Nature (London), 207, 1092 (1965)

22. RAYMOND, S. and L. WEINTRAUB:

Acrylamide gel as a supporting medium for zone electrophoresis.
Science, 130, 711 (1959)

23. SCHEIDEGGER, J.J.:

Une microméthode de l' immunoelectrophorèse.
Int. Arch. Allergy, 7, 103 (1955)

24. SCHEIFFARTH, F., G. BERG und H. GÖTZ:

Papierelektrophorese in Klinik und Praxis.
Urban und Schwarzenberg (1962)

25. SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und H. LUTZ:
Zur Charakterisierung von Myelomproteinen und
Makroglobulinen.
Acta haemat., 34, 144 (1965)
26. SCHEURLEN, P.G.:
a) Nachweis des γ_M -Plasmocytoms mit der Stärkegel-
Elektrophorese.
Klin. Wschr., 42, 986
b) Nachweis der Plasmocytom- γ -Globuline und ihrer
Individualspezifität mit der Stärkegel-Elektrophorese
Klin. Wschr., 21, 1060
27. SCHEUERLEIN, P.G., F.W. TISCHENDORF, M.M. TISCHENDORF
und M. BAAKE:
Untersuchungen über die Heterogenität des γ_{1A} -
Plasmocytom-Globulins.
Klin. Wschr., 42, 935 (1964)
28. SCHULTZE, H.E. und J.E. HEREMANS:
Molecular biology of human proteins.
Elsevier Publ. (Amsterdam), 1, 41 (1966)
29. SMITHIES, O.:
a) Zone electrophoresis in starck gels. Group
variations in the serum proteins of normal human
adults.
Biochem. J., 61, 629 (1955)
b) An improved procedure for starck-gel electrophore-
sis. Further variations in the serum proteins of
normal individuals.
Biochem. J., 71, 585 (1959)
30. TISCHENDORF, F.W., P.G. SCHEUERLEIN und E. KALLEE:
Dissoziation des γ_1 -Makroglobulins durch Cysteamin
bei Makroglobulinaemie Waldenström und primär
chronischer Polyarthrititis.
Verh. Dtsch. Ges. inn. Med., 70, 223 (1967)
31. TISELIUS, A.:
Trans. Faraday Soc., 33, 524 (1937)

32. TISELIUS, A. und H. SVENSSON:

Trans. Faraday Soc., 36, 16 (1940)

33. TISELIUS, A. und P. FLODIN:

Zone electrophoresis.

Advances Protein Chem., 8, 461 (1953)

34. ZWISLER, O. und H. BIEL:

Über Elektrophorese in horizontalem Polyacrylamid-
Gel. 3. Mitteilung

Behringwerk-Mitt., 46, 129 (1966)

Herrn Prof. Dr. F. Scheiffarth möchte ich für die
freundliche Übernahme des Referats und die Überlassung
des Themas herzlich danken.

Ein besonderes Anliegen ist es mir, Frl. Priv.-Doz.
Dr. H. Götz, die mir immer mit Rat und Tat zur Seite
stand, meinen Dank auszusprechen.

L e b e n s l a u f

Am 6. Oktober 1940 wurde ich, Günther Eisen, als erstes Kind des damaligen Assistenzarztes Dr. med. Karl Eisen und dessen Ehefrau Elisabeth, geb. Forster, in Bamberg geboren.

Dort begann ich die schulische Ausbildung. Ich besuchte 4 Jahre die Volksschule, anschließend das Humanistische Gymnasium, wo ich Ende des Schuljahres 1961/62 die Reifeprüfung ablegen konnte.

Nach der Zulassung zum Medizinstudium an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen begann ich mit dem ersten Semester im Winter 1962/63. Im Sommer 1963 bestand ich das Vorphysikum, im Frühjahr 1965 das Physikum.

Die beiden ersten klinischen Semester SS 1965 und WS 1965/66 studierte ich in Innsbruck. In Erlangen führte ich das Studium fort und bin zur Zeit - Frühsommer 1968 - im Staatsexamen.

Das Examen wurde am 22. Juli 1968 abgelegt.



Buchdruckerei Ludwig Müller Erlangen Fahrstraße 5